

麦冬皂苷D调节AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路 对慢性心力衰竭大鼠心肌炎症及细胞凋亡的影响

梁震峰* 王兴 韩文宝 于雷 孟祥敏 李清
(迁安市中医医院心病科, 唐山 064400)

摘要 该文旨在探究麦冬皂苷D(OPD)调节AMP活化蛋白激酶(AMPK)/去乙酰化酶1(SIRT1)/核转录因子 κ B(NF- κ B)信号通路对慢性心力衰竭(CHF)大鼠心肌炎症及细胞凋亡的影响。构建CHF大鼠模型。将CHF大鼠随机分为CHF组, 麦冬皂苷D低(L-OPD)、中(M-OPD)、高(H-OPD)剂量组, 麦冬皂苷高剂量+AMPK抑制剂Compound C组(H-OPD+Compound C组), 每组12只。另外随机选取12只正常大鼠作为对照组(NC组)。动物超声成像仪检测各组大鼠心功能指标; ELISA检测各组大鼠血清心肌标志物、炎症相关因子水平; HE染色观察各组大鼠心肌组织病理变化; TUNEL染色观察TUNEL阳性细胞数, 计算细胞凋亡率; Western blot检测各组大鼠心肌组织AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路、凋亡和心肌纤维化相关蛋白表达情况。CHF组大鼠心肌组织炎性细胞浸润, 损伤明显, 心肌纤维化严重, 心功能指标左室舒张末内径(LVEDD)、左室收缩末内径(LVESD)高于NC组($P < 0.05$), 心肌标志物N末端B型利钠肽原(NT-proBNP)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)水平高于NC组($P < 0.05$), 炎症因子IL-1 β 、IL-18水平高于NC组($P < 0.05$), 细胞凋亡率以及p-NF- κ B p65/NF- κ B p65、Bax、I型胶原、III型胶原表达水平高于NC组($P < 0.05$), 心功能指标左室射血分数(LVEF)、左室缩短分数(LVFS)低于NC组($P < 0.05$), p-AMPK/AMPK、SIRT1、Bcl-2表达水平低于NC组($P < 0.05$); L-OPD组、M-OPD组、H-OPD组, 大鼠心肌组织炎性细胞浸润减少, 病理损伤和心肌纤维化减轻, 心功能指标LVEDD、LVESD低于CHF组($P < 0.05$), 心肌标志物NT-proBNP、CK-MB水平低于CHF组($P < 0.05$), 炎症因子IL-1 β 、IL-18水平低于CHF组($P < 0.05$), 细胞凋亡率以及p-NF- κ B p65/NF- κ B p65、Bax、I型胶原、III型胶原表达水平低于CHF组($P < 0.05$), 心功能指标LVEF、LVFS高于CHF组($P < 0.05$), p-AMPK/AMPK、SIRT1、Bcl-2表达水平高于CHF组($P < 0.05$); H-OPD+Compound C组大鼠心肌组织大量炎性细胞浸润, 病理损伤和心肌纤维化加重, 心功能指标LVEDD、LVESD水平高于H-OPD组($P < 0.05$), 心肌标志物NT-proBNP、CK-MB水平高于H-OPD组($P < 0.05$), 炎症因子IL-1 β 、IL-18水平高于H-OPD组($P < 0.05$), 细胞凋亡率以及p-NF- κ B p65/NF- κ B p65、Bax、I型胶原、III型胶原表达水平高于H-OPD组($P < 0.05$), 心功能指标LVEF、LVFS低于H-OPD组($P < 0.05$), p-AMPK/AMPK、SIRT1、Bcl-2表达水平低于H-OPD组($P < 0.05$)。OPD减轻CHF大鼠心肌炎症, 抑制细胞凋亡, 可能与调控AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路密切相关。

关键词 麦冬皂苷D; AMP活化蛋白激酶/去乙酰化酶1/核转录因子 κ B信号通路; 慢性心力衰竭; 心肌炎症; 细胞凋亡

The Effects of Ophiopogonin D on Myocardial Inflammation and Cell Apoptosis in Chronic Heart Failure Rats by Regulating the AMPK/SIRT1/NF- κ B Signaling Pathway

收稿日期: 2025-06-30

接受日期: 2025-09-10

河北省中医药管理局2022年度中医药类科研项目(批准号: 2022550)资助的课题

*通信作者。Tel: 0315-7622654, E-mail: xqe634@126.com

Received: June 30, 2025

Accepted: September 10, 2025

This work was supported by the Hebei Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine 2022 Annual Research Project on Traditional Chinese Medicine (Grant No.2022550)

*Corresponding author. Tel: +86-315-7622654, E-mail: xqe634@126.com

LIANG Zhenfeng*, WANG Xing, HAN Wenbao, YU Lei, MENG Xiangmin, LI Qing

(Department of Cardiology, Qian'an Traditional Chinese Medicine Hospital, Tangshan 064400, China)

Abstract This study aims to explore the effects of OPD (orphiopogonin D) on myocardial inflammation and cell apoptosis in CHF (chronic heart failure) rats by regulating the AMPK (AMP activated protein kinase)/SIRT1 (sirtuin 1)/NF- κ B (nuclear factor- κ B) signaling pathway. CHF rat model was constructed. CHF rats were classified into CHF group, low (L-OPD), medium (M-OPD), high (H-OPD) dose orphiopogonin D groups, and high dose orphiopogonin D+AMPK inhibitor Compound C group (H-OPD+Compound C group) randomly, each group with 12 rats. In addition, 12 normal rats were randomly served as the control group (NC group). Cardiac function was detected by echocardiography. ELISA was used to detect the levels of serum myocardial markers and inflammation-related factors in each group. HE staining was used to observe the pathological changes of myocardial tissue. TUNEL staining was used to observe the number of TUNEL positive cells, and the apoptosis rate was calculated. Western blot was used to detect the expression of AMPK/SIRT1/NF- κ B signaling pathway, apoptosis and myocardial fibrosis related proteins in myocardial tissue of each group. Inflammatory cell infiltration, obvious injury and serious myocardial fibrosis were observed in the CHF group. The cardiac function indexes of LVEDD (left ventricular end-diastolic diameter) and LVESD (left ventricular end-systolic diameter) in the CHF group were higher than those in the NC group ($P<0.05$). The myocardial markers NT-proBNP (N-terminal pro-B-type natriuretic peptide) and CK-MB (creatin kinase isoenzyme) in the CHF group were higher than those in the NC group ($P<0.05$), and the inflammatory factors IL-1 β and IL-18 were higher than those in the NC group ($P<0.05$). Compared with the NC group, the apoptosis rate and the expression levels of p-NF- κ B p65/NF- κ B p65, Bax, collagen type I and collagen type III were significantly increased ($P<0.05$), and the cardiac function indexes LVEF (left ventricular ejection fraction) and LVFS (left ventricular fractional shortening) were significantly decreased ($P<0.05$) in the CHF group. The expression levels of p-AMPK/AMPK, SIRT1 and Bcl-2 in the CHF group were lower than those in NC group ($P<0.05$). In L-OPD, M-OPD and H-OPD groups, inflammatory cell infiltration, pathological damage and myocardial fibrosis were reduced, LVEDD and LVESD were lower than those in CHF group ($P<0.05$), and myocardial markers NT-proBNP and CK-MB were lower than those in CHF group ($P<0.05$). The inflammatory factors IL-1 β and IL-18 in the L-OPD, M-OPD and H-OPD groups were lower than those in the CHF group ($P<0.05$), the apoptosis rate, the expression levels of p-NF- κ B p65/NF- κ B p65, Bax, collagen type I and collagen type III in the L-OPD, M-OPD and H-OPD groups were lower than those in the CHF group ($P<0.05$), and the cardiac function indexes LVEF and LVFS were higher than those in the CHF group ($P<0.05$). The expression levels of p-AMPK/AMPK, SIRT1 and Bcl-2 in the L-OPD, M-OPD and H-OPD groups were higher than those in the CHF group ($P<0.05$). Compared with the H-OPD group, the H-OPD+Compound C group had significantly increased LVEDD and LVESD ($P<0.05$) and significantly increased NT-proBNP and CK-MB ($P<0.05$). The inflammatory factors IL-1 β and IL-18 in the H-OPD+Compound C group were higher than those in the H-OPD group ($P<0.05$). The apoptosis rate, the ratio of p-NF- κ B p65/NF- κ B p65, Bax, collagen type I and collagen type III in the H-OPD+Compound C group were higher than those in the H-OPD group ($P<0.05$). Compared with the H-OPD group, the LVEF and LVFS in the H-OPD+Compound C group were significantly decreased ($P<0.05$), and the expression levels of p-AMPK/AMPK, SIRT1 and Bcl-2 were significantly decreased ($P<0.05$). OPD alleviates myocardial inflammation and inhibits cell apoptosis in CHF rats, which may be closely related to the regulation of AMPK/SIRT1/NF- κ B signaling pathway.

Keywords orphiopogonin D; AMP activated protein kinase/sirtuin 1/nuclear factor- κ B signaling pathway; chronic heart failure; myocardial inflammation; cell apoptosis

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是指心脏由于结构或功能异常导致泵血功能受损,无法满足机体代谢需求的临床综合征,其是大多数心血管疾病的终末阶段^[1]。由于人口老龄化加剧,CHF发病率呈现持续上升趋势,已成为全球公共卫生领域的重要问题^[2]。在CHF病理进程中,心肌细胞首先发生代偿性肥大,随后逐渐发展为心肌纤维化^[3]。细胞外基质胶原蛋白异常沉积是导致心肌纤维化的基础。同时,持续的慢性炎症状态反应也在此过程中扮演重要角色^[4-5]。因此,减轻炎症反应,可以延缓心肌纤维化进展,抑制心肌细胞损伤。麦冬皂苷D(ophiopogonin D, OPD)是从传统中药麦冬中提取的一种甾体皂苷类化合物,具有抗炎、抗氧化、心血管保护和免疫调节等多种药理作用^[6]。已有研究表明,OPD可在一定程度上预防异丙肾上腺素引起的心肌细胞损伤,抑制心肌细胞凋亡^[7]。然而,关于OPD对CHF中心肌炎症及细胞凋亡的影响尚未见报道。AMP活化蛋白激酶(AMP activated protein kinase, AMPK)/去乙酰化酶1(sirtuin 1, SIRT1)/核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路作为能量代谢调控的重要通路,在维持机体代谢稳态和调控炎症反应过程中起至关重要的作用^[8]。有研究发现,AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路在冠心病大鼠心肌损伤过程中扮演重要角色^[9]。本研究通过构建CHF大鼠模型,探究OPD调控AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路对CHF大鼠心肌炎症及细胞凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

5~6周龄SD雄性大鼠购自南方模式生物科技股份有限公司,生产许可证号:SCXK(沪)2024-0007,大鼠均在SPF级环境中进行饲养,适宜的温度、湿度和光照周期,提供充足的标准饲料及灭菌饮用水。动物实验均经过迁安市中医医院伦理委员会的审核与批准(伦理审批号:2024005)。

1.2 实验试剂与仪器

OPD(HPLC纯度 \geq 98%)(货号:A0343)购自成都曼思特生物科技股份有限公司;AMPK抑制剂Compound C(货号:B3252)购自APEXBIO公司;大鼠N末端B型利钠肽原(N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, NT-proBNP)、IL-1 β 、IL-18 ELISA试剂盒(货号:BH4116、BH4185、BH4182)购自

上海博耀生物科技有限公司;大鼠肌酸激酶同工酶(creatin kinase isoenzyme, CK-MB) ELISA试剂盒(货号:EK-R30505)购自上海酶研生物科技有限公司;改良Masson、HE染色液、TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(货号:YT8685、YT8310、YT2205)购自北京伊塔生物科技有限公司;Bax、SIRT1、Bcl-2、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65、 β -actin抗体(货号:YS-28034R、0921P、BS-0032R、AN365、AN371、YSm-33036M)购自雅吉生物科技有限公司;I型胶原、III型胶原、p-AMPK、AMPK抗体(货号:E-AB-70008、E-AB-10250、E-AB-21121、E-AB-12968)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;动物超声成像仪(型号:VINNO)购自青岛翌宏生物科技有限公司;倒置荧光显微镜(型号:NIB600)购自江南永新光学仪器有限公司;酶标仪(型号:LabServTMK3)购自上海辅泽商贸有限公司;石蜡切片机(型号:S712)购自瑞沃德生命科技有限公司;凝胶成像系统(型号:FPGD2)购自安徽乐赛生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠CHF模型构建及分组 参考梁国庆等^[10]的方法构建CHF大鼠模型。大鼠进行12 h禁食处理,随后采用3%戊巴比妥钠溶液实施腹腔注射麻醉。将麻醉后的大鼠置于仰卧位固定,手术区域进行备皮消毒。大鼠进行气管插管并连接动物呼吸机。待呼吸参数稳定后,于第三、第四肋间实施开胸,并暴露肋间隙,通过胸壁切口轻轻挤出心脏,使用无菌手术线结扎左冠状动脉前降支,当观察到结扎远端心肌组织出现明显苍白或紫绀等缺血症状后,将心脏复位至胸腔,逐层缝合伤口,青霉素溶液涂抹于伤口预防感染。大鼠恢复自主呼吸后,移除呼吸机,继续正常喂养4周,使用动物超声成像仪进行检测,若大鼠左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF) $<$ 63%、左室缩短分数(left ventricular fractional shortening, LVFS) $<$ 30%^[10],则CHF大鼠模型构建成功(模型制备过程中动物死亡率是20%)。

造模成功的大鼠随机分为CHF组,麦冬皂苷D低(L-OPD)、中(M-OPD)、高(H-OPD)剂量组,麦冬皂苷高剂量+AMPK抑制剂Compound C组(H-OPD+Compound C组),每组12只。另外选取12只正常SD雄性大鼠,只进行手术,不进行结扎。由于麦冬皂苷D粉末水溶性较差,需先用少量DMSO溶解(选择

DMSO作为助溶剂, 是由于其溶解效果好且低浓度毒性小), 再用等量生理盐水稀释成1 mg/mL储备液, 用于后续实验组药物处理。根据参考文献[11]中OPD的低、中、高使用剂量(10、20、40 mg/kg), 后续实验设定L-OPD组、M-OPD组、H-OPD组大鼠分别采用相应剂量, 通过灌胃途径给药。H-OPD+Compound C组在灌胃40 mg/kg OPD的基础上, 腹腔注射0.2 mg/kg Compound C^[12]。NC组和CHF组给予等体积氯化钠溶液, 每天1次, 共28天。

1.3.2 大鼠心功能指标检测 完成给药周期后, 大鼠采用3%戊巴比妥钠溶液进行麻醉, 仰卧位固定, 胸部进行备皮处理。将动物超声成像仪探头置于胸骨左源旁开1.5 mm处, 获得纵轴B型超声和横轴M型超声切面, 进行心功能动态检测, 连续采集不少于3个心动周期的数据, 自动计算左室舒张末内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、左室收缩末内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、LVEF、LVFS。

1.3.3 大鼠血清心肌标记物、炎症相关因子水平检测 各组大鼠心功能指标检测完成后, 腹腔注射3倍剂量的3%戊巴比妥钠溶液实施安乐死, 仰卧位固定, 75%酒精消毒胸壁, 沿着胸骨中线开胸, 暴露心脏, 使用肝素湿润内壁的无菌注射器从左心室插入, 缓慢回抽血液。收集心脏全血于抗凝管中, 置于冰上1 h。然后, 离心(4 °C、3 000 r/min、15 min)收集血清, 按ELISA试剂盒说明书配制专用稀释液(用于血清样本稀释)并加入96孔板。将各组大鼠血清样本稀释后加入检测孔, 37 °C避光孵育1.5 h, 酶标仪检测吸光度(D)值, 计算心肌标记物NT-proBNP、CK-MB以及炎症因子IL-1 β 、IL-18水平。剩余血清转入-80 °C低温保存。

1.3.4 大鼠心肌组织病理变化 心脏取血完成后, 取各组大鼠心脏组织。将部分心肌组织置于多聚甲醛溶液中进行室温固定24 h。固定结束后, 进行脱水、透明化、浸蜡包埋, 制成切片, 60 °C烘干切片。使用改良Masson、HE染色液处理切片, 镜下观察各组大鼠心肌组织病理和纤维化变化。剩余心肌组织置于-80 °C冰箱中长期保存。

1.3.5 大鼠心肌组织I型胶原、III型胶原表达水平检测 取1.3.4中的心肌组织切片, 进行常规脱蜡、脱水, H₂O₂室温封闭30 min, BSA封闭液37 °C封闭30 min。分别滴加I型胶原、III型胶原一抗(1:100), 4 °C湿盒过

夜孵育。然后, 二抗(1:500)室温孵育1 h。最后用显色液显色并在荧光显微镜下观察, 软件分析计算D值。

1.3.6 大鼠心肌细胞凋亡率变化 取1.3.4烘干好的切片, 浸入二甲苯充分脱蜡, 依次用不同浓度(70%、80%、85%、90%、95%、100%)无水乙醇进行梯度脱水, 滴加适量蛋白酶K, 室温孵育15 min。PBS清洗后, 加入5% BSA封闭液, 室温孵育30 min。根据试剂盒说明书, 避光处理切片, 湿盒中4 °C孵育1 h, 滴加DAB显色液避光反应10 min。经二甲苯透明、封片。光学显微镜下观察凋亡细胞, 随机选取5个视野计数阳性细胞数, 计算凋亡率。

1.3.7 大鼠心肌组织AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路、凋亡相关蛋白表达水平检测 取保存于-80 °C的心肌组织样本, 加入预冷的RIPA裂解缓冲液充分匀浆, 确保组织充分裂解。随后, 将裂解液离心(4 °C、1 500 r/min、15 min), 收集上清液为蛋白提取物。采用试剂盒测定上清液蛋白浓度。将定量后的蛋白样本与上样缓冲液混合, 高温变性。使用凝胶进行电泳分离, 并通过湿转法将凝胶中蛋白转移至膜上, 使用TBST洗涤膜3次, 用蛋白封闭液室温封闭2 h。将封闭后的膜与目标蛋白p-NF- κ B p65、NF- κ B p65、Bax、p-AMPK、AMPK、SIRT1、Bcl-2抗体(1:1 500稀释)于4 °C下过夜孵育。接着, 加入HRP标记二抗(1:3 000), 室温孵育2 h。然后, 通过化学发光液进行显色, 以 β -actin为内参, 采用ImageJ分析软件对目标蛋白进行灰度值分析, 计算其相对表达量。

1.4 统计分析

本研究所有实验数据均采用GraphPad Prism 9进行统计学分析。对计量资料进行Shapiro-Wilk检验, 经验证符合正态分布的数据采用均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。三组及以上实验组比较时, 选用单因素方差分析。对于存在显著差异的实验组, 进一步采用SNK-*q*检验进行组间两两比较。计算所得 $P<0.05$, 则判定组间差异具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 OPD对大鼠心功能指标影响

CHF组与NC组比较, 大鼠LVEDD、LVESD升高($P<0.05$), LVEF、LVFS降低($P<0.05$); L-OPD组、M-OPD组、H-OPD组与CHF组比较, 大鼠LVEDD、LVESD降低($P<0.05$), LVEF、LVFS升高($P<0.05$); H-OPD+Compound C组与H-OPD组比较, 大鼠

LVEDD、LVESD显著升高($P<0.05$), LVEF、LVFS显著降低($P<0.05$)(表1)。这进一步说明OPD能够改善CHF大鼠心功能。

2.2 OPD对大鼠血清心肌标记物、炎症相关因子水平影响

CHF组与NC组比较,大鼠血清NT-proBNP、CK-MB、IL-1 β 、IL-18水平升高($P<0.05$); L-OPD组、M-OPD组、H-OPD组与CHF组比较,大鼠血清NT-proBNP、CK-MB、IL-1 β 、IL-18水平降低($P<0.05$); H-OPD+Compound C组与H-OPD组比较,大鼠血清NT-proBNP、CK-MB、IL-1 β 、IL-18水平显著升高($P<0.05$)(表2)。这说明OPD能够抑制CHF大鼠炎症反应,改善心肌损伤。

2.3 OPD对大鼠心肌组织病理变化影响

HE染色结果显示: CHF组与NC组比较,大鼠心肌组织大量炎性细胞浸润,病理损伤和心肌纤维化加重;而L-OPD组、M-OPD组、H-OPD组与CHF组比较,大鼠心肌组织炎性细胞浸润减少,病理损伤和心肌纤维化减轻;H-OPD+Compound C组与H-OPD

组比较,大鼠心肌组织炎性细胞浸润加重,病理损伤和心肌纤维化严重(图1和图2)。这表明OPD能够改善CHF大鼠心肌组织病理损伤。

2.4 OPD对大鼠心肌组织I型胶原、III型胶原表达影响

免疫组化结果显示: CHF组与NC组比较,大鼠心肌组织I型胶原、III型胶原表达水平升高($P<0.05$); L-OPD组、M-OPD组、H-OPD组与CHF组比较,大鼠心肌组织I型胶原、III型胶原表达水平降低($P<0.05$); H-OPD+Compound C组与H-OPD组比较,大鼠心肌组织I型胶原、III型胶原表达水平显著升高($P<0.05$)(图3、图4和表3)。这说明OPD能够延缓CHF大鼠心肌组织纤维化进程。

2.5 OPD对大鼠心肌细胞凋亡率及凋亡相关蛋白表达影响

凋亡心肌细胞显示红色荧光。CHF组与NC组比较,大鼠心肌组织红色荧光数量、心肌细胞凋亡增加, Bax表达水平升高, Bcl-2表达水平降低($P<0.05$); L-OPD组、M-OPD组、H-OPD组与CHF

表1 各组大鼠心功能指标比较

Table 1 Comparison of cardiac function indexes of rats in each group

组别 Groups	LVEDD /mm	LVESD /mm	LVFS /%	LVEF /%
NC group	4.29±0.43	3.86±0.52	45.18±2.06	65.37±6.79
CHF group	9.85±1.28*	8.73±0.91*	24.31±1.31*	31.52±3.53*
L-OPD group	8.27±0.89 [#]	7.39±0.85 [#]	29.46±1.82 [#]	39.28±4.09 [#]
M-OPD group	6.93±0.71 ^{#&}	6.45±0.73 ^{#&}	34.58±3.55 ^{#&}	51.49±5.36 ^{#&}
H-OPD group	5.78±0.58 ^{#&@}	4.57±0.65 ^{#&@}	38.25±4.08 ^{#&@}	60.15±6.05 ^{#&@}
H-OPD+Compound C group	7.52±0.76 [%]	6.85±0.69 [%]	32.29±3.47 [%]	44.63±4.87 [%]

* $P<0.05$, 与NC组比较; [#] $P<0.05$, 与CHF组比较; [&] $P<0.05$, 与L-OPD组比较; [@] $P<0.05$, 与M-OPD组比较; [%] $P<0.05$, 与H-OPD组比较。 $\bar{x}\pm s$, $n=12$ 。

* $P<0.05$ compared with NC group; [#] $P<0.05$ compared with CHF group; [&] $P<0.05$ compared with L-OPD group; [@] $P<0.05$ compared with M-OPD group; [%] $P<0.05$ compared with H-OPD group. $\bar{x}\pm s$, $n=12$.

表2 各组血清心肌标记物、炎症相关因子水平比较

Table 2 Comparison of the levels of serum myocardial markers and inflammation-related factors in each group

组别 Groups	NT-proBNP /ng·L ⁻¹	CK-MB /U·L ⁻¹	IL-1 β /pg·mL ⁻¹	IL-18 /pg·mL ⁻¹
NC group	105.37±16.12	16.03±1.84	17.52±3.83	42.35±6.11
CHF group	228.95±38.31*	49.15±6.38*	89.13±10.75*	136.59±19.49*
L-OPD group	198.64±22.54 [#]	41.28±4.76 [#]	78.06±8.02 [#]	113.82±15.94 [#]
M-OPD group	169.56±20.18 ^{#&}	32.81±4.93 ^{#&}	57.49±6.13 ^{#&}	91.06±13.15 ^{#&}
H-OPD group	137.28±15.42 ^{#&@}	25.49±3.38 ^{#&@}	25.38±3.46 ^{#&@}	69.28±8.09 ^{#&@}
H-OPD+Compound C group	183.19±21.06 [%]	37.53±3.81 [%]	65.37±8.79 [%]	103.73±16.57 [%]

* $P<0.05$, 与NC组比较; [#] $P<0.05$, 与CHF组比较; [&] $P<0.05$, 与L-OPD组比较; [@] $P<0.05$, 与M-OPD组比较; [%] $P<0.05$, 与H-OPD组比较。 $\bar{x}\pm s$, $n=12$ 。

* $P<0.05$ compared with NC group; [#] $P<0.05$ compared with CHF group; [&] $P<0.05$ compared with L-OPD group; [@] $P<0.05$ compared with M-OPD group; [%] $P<0.05$ compared with H-OPD group. $\bar{x}\pm s$, $n=12$.

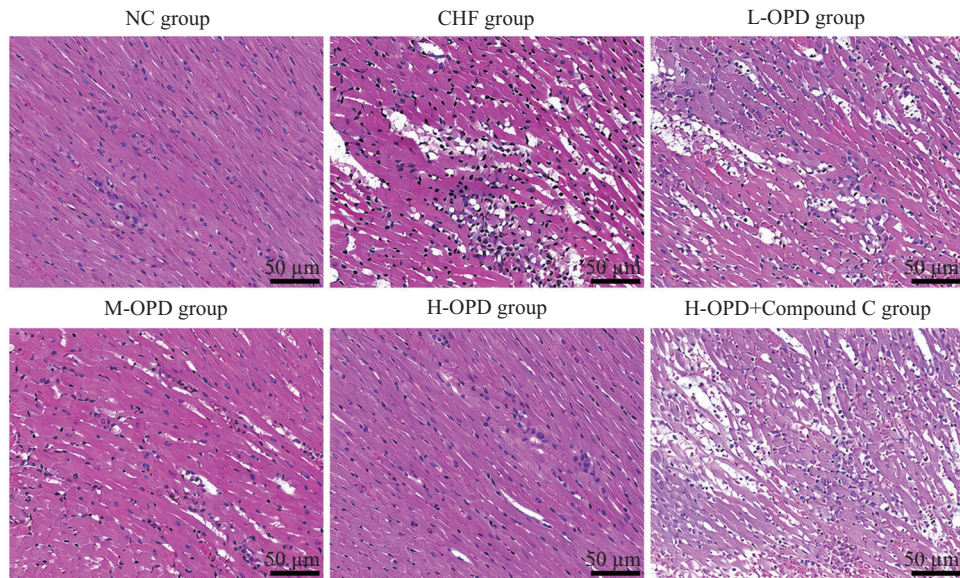


图1 各组大鼠心肌组织病理变化观察

Fig.1 Observation of pathological changes in myocardial tissue of rats in each group

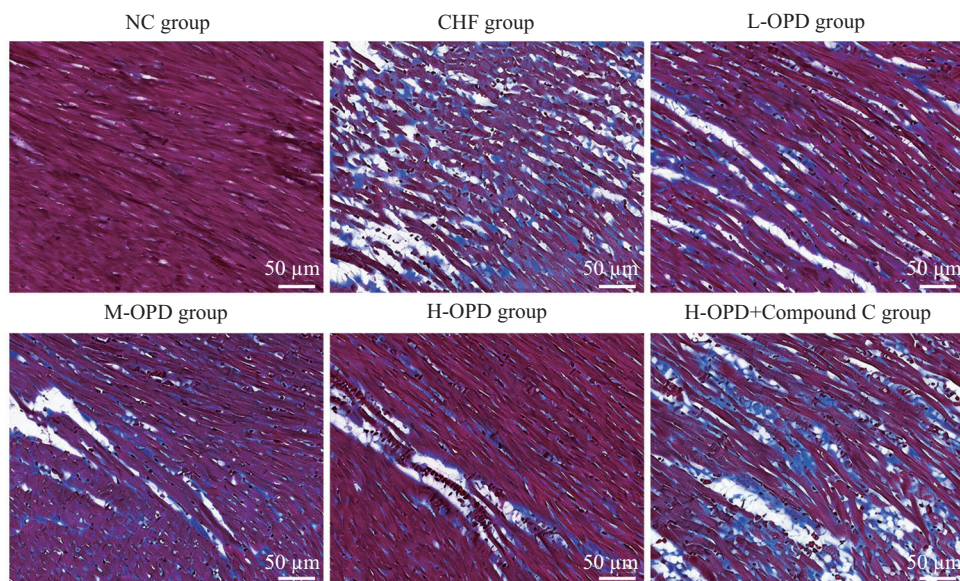


图2 各组大鼠心肌组织纤维化变化观察

Fig.2 Observation of myocardial fibrosis in each group of rats

组比较,大鼠心肌组织红色荧光数量、心肌细胞凋亡减少, Bax表达水平降低, Bcl-2表达水平升高 ($P < 0.05$); H-OPD+Compound C组与H-OPD组比较,大鼠心肌组织红色荧光数量、心肌细胞凋亡增加, Bax表达水平显著升高, Bcl-2表达水平显著降低 ($P < 0.05$)(图5~图7和表4)。这表明OPD能够减轻CHF大鼠心肌细胞凋亡。

2.6 OPD对大鼠心肌组织AMPK/SIRT1/NF-κB信号通路相关蛋白表达的影响

Western blot结果显示: CHF组大鼠心肌组织

p-NF-κB p65/NF-κB p65水平高于NC组 ($P < 0.05$), p-AMPK/AMPK、SIRT1水平低于NC组 ($P < 0.05$); L-OPD组、M-OPD组、H-OPD组,大鼠心肌组织p-NF-κB p65/NF-κB p65水平低于CHF组 ($P < 0.05$), p-AMPK/AMPK、SIRT1水平高于CHF组 ($P < 0.05$); H-OPD+Compound C组大鼠心肌组织p-NF-κB p65/NF-κB p65水平高于H-OPD组 ($P < 0.05$), p-AMPK/AMPK、SIRT1水平低于H-OPD组 ($P < 0.05$)(图8和表5)。这表明OPD能够降低CHF大鼠心肌组织p-NF-κB p65/NF-κB p65水平,增加p-AMPK/AMPK、SIRT1水平。

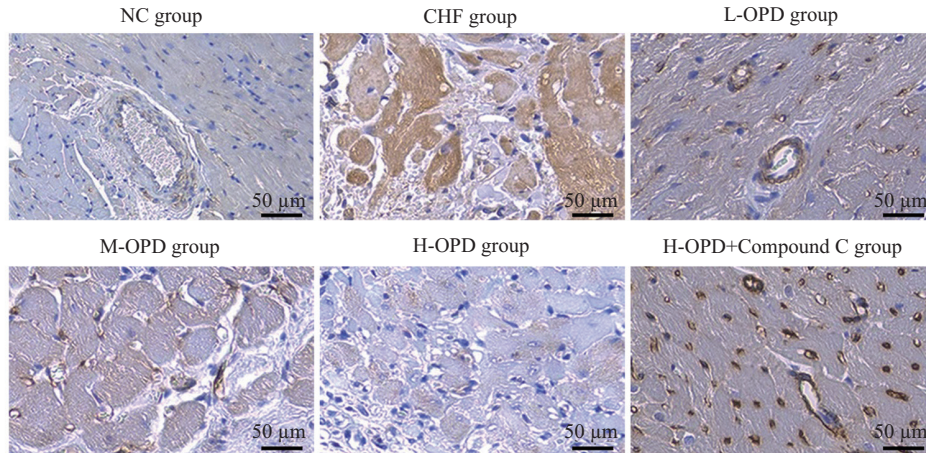


图3 各组大鼠心肌组织I型胶原表达变化

Fig.3 Changes in the expression of collagen type I in myocardial tissue of rats in each group

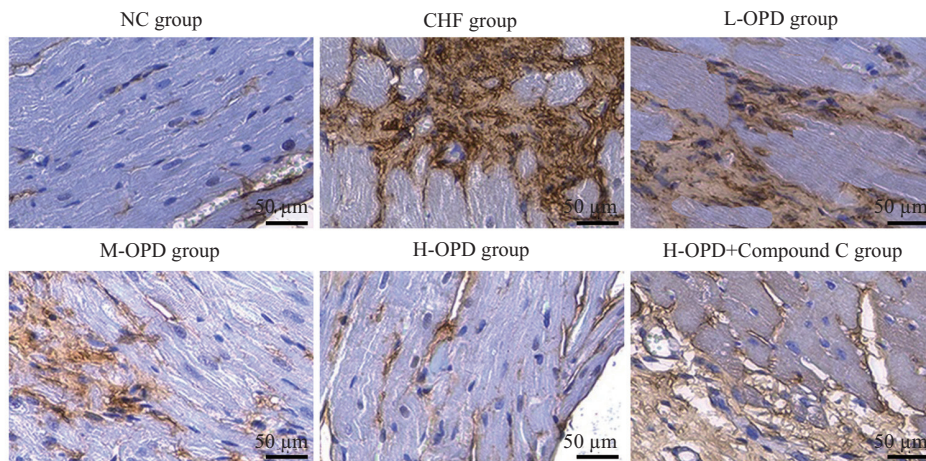


图4 各组大鼠心肌组织III型胶原表达变化

Fig.4 Changes of myocardial collagen type III expression in each group

表3 各组大鼠心肌组织I型胶原、III型胶原表达比较

Table 3 Comparison of the expression of collagen type I and collagen type III in myocardial tissue of rats in each group

组别 Groups	I型胶原(吸光度值) Type I collagen (optical density)	III型胶原(吸光度值) Type III collagen (optical density)
NC group	0.24±0.03	0.32±0.05
CHF group	0.89±0.15*	0.93±0.12*
L-OPD group	0.78±0.08 [#]	0.81±0.09 [#]
M-OPD group	0.56±0.06 ^{#&}	0.59±0.07 ^{#&}
H-OPD group	0.37±0.05 ^{#&@}	0.45±0.06 ^{#&@}
H-OPD+Compound C group	0.64±0.09 [%]	0.73±0.08 [%]

* $P < 0.05$, 与NC组比较; [#] $P < 0.05$, 与CHF组比较; [&] $P < 0.05$, 与L-OPD组比较; [@] $P < 0.05$, 与M-OPD组比较; [%] $P < 0.05$, 与H-OPD组比较。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

* $P < 0.05$ compared with NC group; [#] $P < 0.05$ compared with CHF group; [&] $P < 0.05$ compared with L-OPD group; [@] $P < 0.05$ compared with M-OPD group; [%] $P < 0.05$ compared with H-OPD group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$.

3 讨论

CHF作为一种复杂的临床综合征,其发生发展的病理学基础在于心肌重塑。在心血管病领域,当心肌组织发生缺血时,会引发过度的炎症反应,加

剧心肌细胞凋亡和坏死,进而导致心室重塑和收缩功能障碍^[13]。研究表明,心肌细胞凋亡在心血管疾病中起关键作用,尤其是在CHF病理进程中。细胞凋亡是一种程序性死亡,其异常激活可导致心肌细

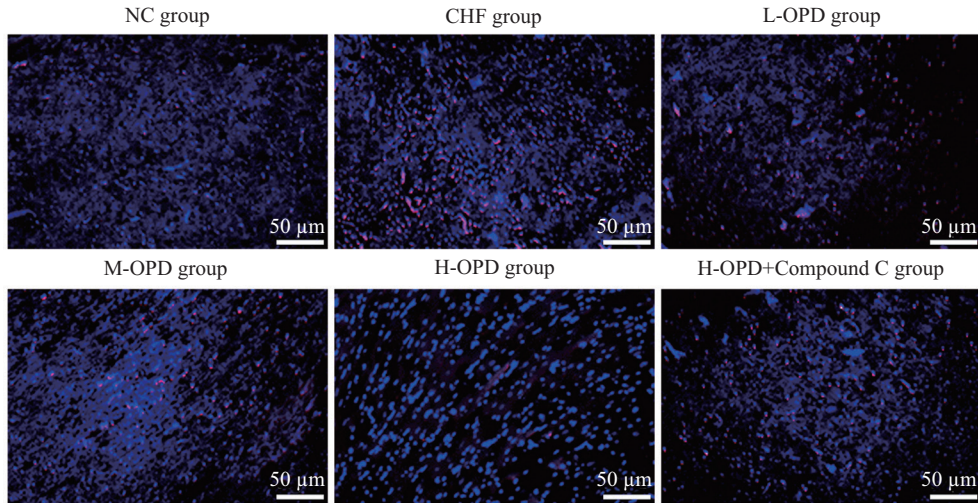
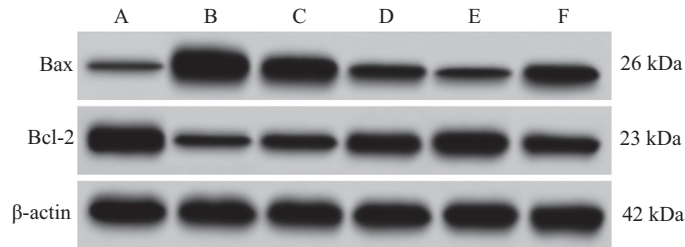


图5 各组大鼠心肌细胞凋亡情况变化

Fig.5 Changes in apoptosis of cardiomyocytes in each group of rats



A: NC组; B: CHF组; C: L-OPD组; D: M-OPD组; E: H-OPD组; F: H-OPD+Compound C组。

A: NC group; B: CHF group; C: L-OPD group; D: M-OPD group; E: H-OPD group; F: H-OPD+Compound C group.

图6 各组大鼠心肌组织Bax、Bcl-2表达变化

Fig.6 Changes in the expression of Bax and Bcl-2 in myocardial tissues of rats in each group

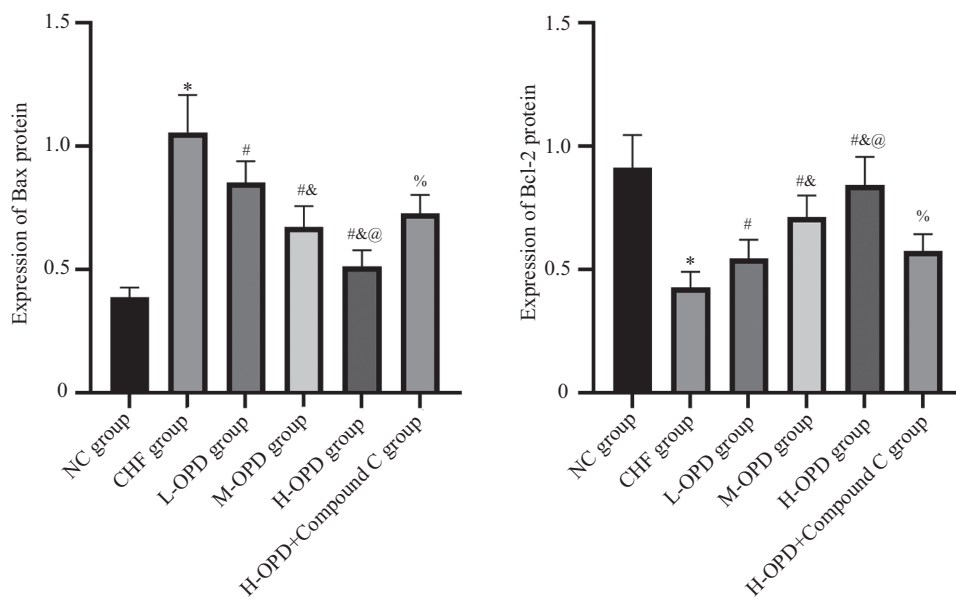


图7 Bax、Bcl-2蛋白表达比较

Fig.7 Comparison of Bax and Bcl-2 protein expression

表4 各组大鼠心肌细胞凋亡率比较
Table 4 Comparison of apoptosis rate of cardiomyocytes in each group

组别 Groups	细胞凋亡率/% Cell apoptosis rate /%
NC group	2.53±0.35
CHF group	26.81±3.62*
L-OPD group	15.47±1.83 [#]
M-OPD group	9.16±1.02 ^{#&}
H-OPD group	4.85±0.67 ^{#&@}
H-OPD+Compound C group	12.19±1.46 [%]

* $P < 0.05$, 与NC组比较; [#] $P < 0.05$, 与CHF组比较; [&] $P < 0.05$, 与L-OPD组比较; [@] $P < 0.05$, 与M-OPD组比较; [%] $P < 0.05$, 与H-OPD组比较。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

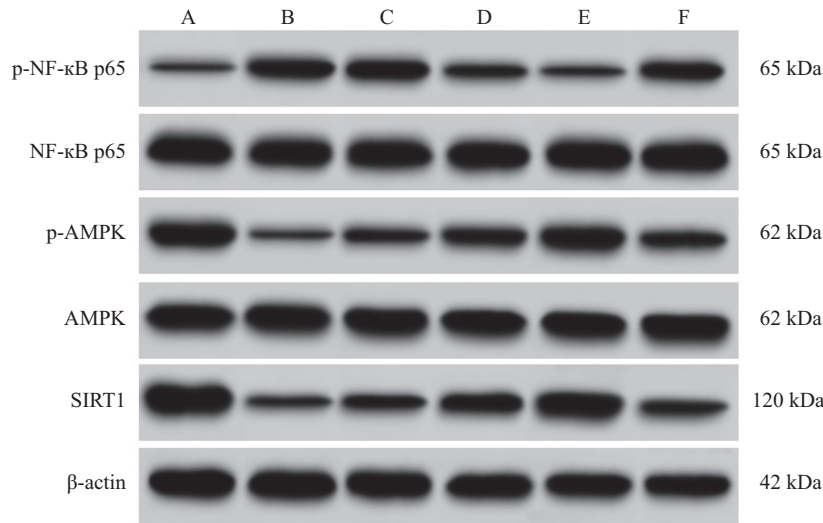
* $P < 0.05$ compared with NC group; [#] $P < 0.05$ compared with CHF group; [&] $P < 0.05$ compared with L-OPD group; [@] $P < 0.05$ compared with M-OPD group; [%] $P < 0.05$ compared with H-OPD group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$.

胞不可逆性的损伤,加重CHF进程^[14]。凋亡的心肌细胞清除不足可能导致心肌纤维化加剧,进一步导致心功能受损^[15]。因此,探索新型药物调控关键炎症因子的表达,可以减轻心肌组织损伤,更能有效阻断CHF恶性循环。本研究通过结扎左冠状动脉前降支构建CHF大鼠模型,发现CHF组大鼠LVEDD、LVESD升高,LVEF、LVFS降低,说明CHF大鼠模型的成功构建。进一步通过实验发现CHF大鼠心肌损伤病理严重,胶原纤维沉积加重,炎症相关因子IL-1 β 、IL-18水平升高,心肌标记物NT-proBNP、CK-MB以及心肌纤维化相关蛋白I型胶原、III型胶原表达水平升高,表明大鼠心肌组织炎症细胞浸润和纤维化严重可能是导致心肌细胞损伤加剧的重要原因。

近年来,来自于传统中药麦冬的活性成分OPD,在抗炎和心血管保护方面展现出显著的治疗潜力。赵玲琳等^[16]研究表明,OPD能够显著降低缺血缺氧诱导的心肌细胞中炎症因子TNF- α 和IL-1 β 水平,对心肌细胞起到保护作用。赵志成等^[17]研究显示,OPD可改善心肌缺血再灌注损伤大鼠心功能,抑制心肌炎症反应和心肌细胞凋亡。以上研究均说明,OPD在抑制炎症反应,改善心肌细胞损伤方面具有重要意义。本研究结果显示,CHF组大鼠血清炎症因子、细胞凋亡率、Bax表达水平比NC组高,Bcl-2表达水平比NC组低。当使用不同剂量OPD治疗CHF大鼠后,大鼠血清炎症因子、细胞凋亡率、Bax水平降低,Bcl-2表达水平升高,与前人研究结果^[18]一致,说明OPD可能通过抑制心肌炎症反应,减轻心肌细胞凋亡。本研究进一步通过实验发现经过OPD治疗的CHF大鼠心肌组织纤维化程度也显著降低,I

型胶原、III型胶原表达水平降低,这与冷婧等^[19]研究结果一致,表明OPD可减少CHF大鼠心肌组织胶原纤维沉积,影响心肌重塑,抑制心肌细胞凋亡。这些结果均表明,OPD能够通过抑制心肌组织炎症反应和心肌纤维化,抑制心肌细胞凋亡,缓解心肌组织病理损伤,从而对CHF发挥治疗作用。然而,OPD在治疗CHF中发挥作用的分子机制仍需进一步研究。

心肌细胞的生理功能与其能量代谢过程密切相关。AMPK作为细胞能量传感器,通过调控下游靶蛋白SIRT1,进而影响线粒体生物合成^[20]。研究表明激活AMPK/SIRT1通路,能够抑制氧化应激反应,减轻缺氧导致的血管内皮细胞损伤和凋亡^[21]。NF- κ B属于转录调控因子,在细胞凋亡过程中展现双向调控作用。已有研究表明,达格列净通过调控SIRT1/NF- κ B信号通路,上调SIRT1表达,下调NF- κ B p65的磷酸化水平,减轻冠状动脉微栓塞引起的心肌炎症反应并抑制心肌细胞凋亡^[22]。随着深入研究发现,AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路在心肌损伤方面扮演重要角色。SHAN等^[23]研究发现,Rap1 GTP酶激活蛋白通过抑制AMPK/SIRT1,激活NF- κ B信号通路,导致心肌细胞发生凋亡和炎症反应,加剧缺血缺氧对心肌细胞的损伤。包立民等^[9]研究说明,花黄色素通过调节AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路,减轻炎症反应,减轻冠心病大鼠心肌损伤。以上研究均表明,通过调节AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路可能对心肌细胞凋亡和心肌损伤产生影响。本研究结果显示,CHF大鼠心肌组织p-NF- κ B p65/NF- κ B p65水平升高,p-AMPK/AMPK、SIRT1水平降低。然而,当大鼠经过OPD治疗后,p-NF- κ B p65/NF- κ B p65



A: NC组; B: CHF组; C: L-OPD组; D: M-OPD组; E: H-OPD组; F: H-OPD+Compound C组。

A: NC group; B: CHF group; C: L-OPD group; D: M-OPD group; E: H-OPD group; F: H-OPD+Compound C group.

图8 各组大鼠AMPK/SIRT1/NF-κB信号通路相关蛋白表达变化

Fig.8 Changes in the expression of proteins related to the AMPK/SIRT1/NF-κB signaling pathway in each group of rats

表5 各组大鼠心肌组织AMPK/SIRT1/NF-κB信号通路相关蛋白表达比较

Table 5 Comparison of expression of AMPK/SIRT1/NF-κB signaling pathway-related proteins in cardiac tissue of each group of rats

组别 Groups	p-NF-κB p65/NF-κB p65	p-AMPK/AMPK	SIRT1
NC group	0.31±0.05	0.92±0.15	1.05±0.13
CHF group	0.87±0.09*	0.26±0.03*	0.39±0.06*
L-OPD group	0.78±0.08 [#]	0.43±0.05 [#]	0.51±0.08 [#]
M-OPD group	0.56±0.06 ^{#&}	0.66±0.07 ^{#&}	0.75±0.09 ^{#&}
H-OPD group	0.38±0.04 ^{#&@}	0.84±0.11 ^{#&@}	0.93±0.12 ^{#&@}
H-OPD+Compound C group	0.63±0.07 [%]	0.52±0.09 [%]	0.58±0.06 [%]

* $P < 0.05$, 与NC组比较; [#] $P < 0.05$, 与CHF组比较; [&] $P < 0.05$, 与L-OPD组比较; [@] $P < 0.05$, 与M-OPD组比较; [%] $P < 0.05$, 与H-OPD组比较。 $\bar{x} \pm s$, $n=6$ 。

* $P < 0.05$ compared with NC group; [#] $P < 0.05$ compared with CHF group; [&] $P < 0.05$ compared with L-OPD group; [@] $P < 0.05$ compared with M-OPD group; [%] $P < 0.05$ compared with H-OPD group. $\bar{x} \pm s$, $n=6$.

水平降低, p-AMPK/AMPK、SIRT1水平升高, 推测OPD可能通过调控AMPK/SIRT1/NF-κB信号通路, 增加p-AMPK/AMPK、SIRT1水平, 减少-NF-κB p65/NF-κB p65水平, 进而抑制CHF大鼠心肌炎症及细胞凋亡。使用AMPK抑制剂Compound C可部分逆转OPD对CHF大鼠心脏的保护作用, 进一步证明OPD可能通过激活AMPK/SIRT1, 抑制NF-κB信号通路, 抑制CHF大鼠炎症反应和心肌细胞凋亡。然而, 本研究尽管证实OPD通过调控AMPK/SIRT1/NF-κB信号通路对CHF大鼠具有显著的心脏保护作用, 但仍存在一定局限性, 如实验周期较短, 缺乏长期用药安全性和有效性, 未进一步阐明OPD与该通路分子的直接相互作用以及

OPD是否通过AMPK-线粒体途径调控细胞凋亡。因此, 后期将继续深入探讨OPD是否通过调控其他通路改善CHF大鼠心肌炎症和心肌损伤。

综上所述, OPD改善CHF大鼠心肌炎症和心肌细胞凋亡, 其作用机制可能与调控AMPK/SIRT1/NF-κB信号通路发生有关, 本研究为治疗CHF提供了新的理论依据。

参考文献 (References)

- [1] GUO B, SHI S, GUO Y, et al. Interventional therapies for chronic heart failure: an overview of recent developments [J]. ESC Heart Fail, 2025, 12(2): 1081-94.
- [2] OBOKATA M, SORIMACHI H, HARADA T, et al. Epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and therapy of heart failure with pre-

- served ejection fraction in Japan [J]. *J Card Fail*, 2023, 29(3): 375-88.
- [3] MCLELLAN M A, SKELLY D A, DONA M S I, et al. High-resolution transcriptomic profiling of the heart during chronic stress reveals cellular drivers of cardiac fibrosis and hypertrophy [J]. *Circulation*, 2020, 142(15): 1448-63.
- [4] LÓPEZ B, RAVASSA S, MORENO MU, et al. Diffuse myocardial fibrosis: mechanisms, diagnosis and therapeutic approaches [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(7): 479-98.
- [5] 吕芳, 李卫萍, 田朝霞, 等. 木犀草素通过调控AMPK/SIRT3通路改善慢性心力衰竭大鼠心脏功能及心肌纤维化的研究[J]. *免疫学杂志*(LÜ F, LI W P, TIAN C X, et al. Study on the improvement of cardiac function and myocardial fibrosis in chronic heart failure rats by hyoscyamine by regulating the AMPK/SIRT3 pathway [J]. *Journal of Immunology*), 2022, 38(5): 407-15.
- [6] PU Z, GUI Y, WANG W, et al. Ophiopogonin d from ophiopogon japonicas-induced USP25 activity to reduce ferroptosis of macrophage in acute lung injury by the inhibition of bound racl and nox1 complex [J]. *Am J Chin Med*, 2025, 53(2): 501-22.
- [7] 张光晨, 王一豪, 阮盼盼, 等. 麦冬皂苷D对异丙肾上腺素诱导的心肌细胞损伤的保护作用及靶点初探[J]. *中国中药杂志*(ZHANG G C, WANG Y H, RUAN P P, et al. Preliminary exploration of the protective effect of Maodong Saponin D on isoproterenol-induced myocardial cell injury and its targets [J]. *Chinese Journal of Chinese Materia Medica*), 2022, 47(10): 2721-8.
- [8] ABDOU R M, EL-MAADAWY W H, HASSAN M, et al. Nephroprotective activity of aframomum melegueta seeds extract against diclofenac-induced acute kidney injury: a mechanistic study [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 273(6): 113939-91.
- [9] 包立民, 姜焜, 王菊, 等. 花黄色素调节AMPK/SIRT1/NF- κ B信号通路对冠心病大鼠心肌损伤的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*(BAO L M, JIANG K, WANG J, et al. Effects of anthocyanin on AMPK/SIRT1/NF- κ B signaling pathway in regulating myocardial injury in coronary heart disease rats [J]. *Journal of Integrated Traditional and Western Medicine for Heart and Cerebral Vascular Diseases*), 2024, 22(16): 2932-7.
- [10] 梁国庆, 夏冉, 王银燕, 等. 基于NLRP3/Caspase-1信号通路探讨参芪健心方对慢性心力衰竭模型大鼠心肌细胞焦亡的影响[J]. *中医杂志*(LIANG G Q, XIA R, WANG Y Y, et al. Exploring the effect of Shenqi Jianxin formula on myocardial cell pyroptosis in chronic heart failure model rats based on the NLRP3/Caspase-1 signaling pathway [J]. *Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 65(1): 94-102.
- [11] 曹斌, 于梅. 麦冬皂苷D对大鼠心肌细胞凋亡及caspase通路的影响[J]. *中国药师*(CAO B, YU M. Effects of Maidong Saponin D on apoptosis of rat cardiomyocytes and the caspase pathway [J]. *Chinese Journal of Pharmacy*), 2019, 22(3): 451-6.
- [12] 赵彩霞, 刘建芳, 刘宏, 等. 雷公藤甲素对心力衰竭大鼠心肌损伤及AMPK/mTOR通路的影响[J]. *中南医学科学杂志*(ZHAO C X, LIU J F, LIU H, et al. Effects of triptolide on myocardial injury and AMPK/mTOR pathway in rats with heart failure [J]. *Central South Medical Journal*), 2025, 53(1): 23-7,69.
- [13] 韩明磊, 刘振, 崔佳佳, 等. M2型巨噬细胞通过Ac2-26极化调节对急性心力衰竭大鼠血流动力学与心肌线粒体损害的影响研究[J]. *现代免疫学*(HAN M L, LIU Z, CUI J J, et al. Study on the effects of M2-type macrophage polarization regulation on hemodynamics and myocardial mitochondrial damage in acute heart failure rats [J]. *Modern Immunology*), 2024, 44(1): 17-25.
- [14] 金娟, 董晓阁, 刘莉, 等. 参芪益心方抑制阿霉素诱导大鼠H9c2细胞凋亡的机制研究[J]. *中国中西医结合杂志*(JIN J, DONG X G, LIU L, et al. Study on the mechanism of Shenqi Yixin Formula in inhibiting adriamycin-induced apoptosis of H9c2 cells in rats [J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*), 2021, 41(6): 729-35.
- [15] KOSIBOROD M N, JHUND P S, DOCHERTY K F, et al. Effects of dapagliflozin on symptoms, function, and quality of life in patients with heart failure and reduced ejection fraction: results from the DAPA-HF trial [J]. *Circulation*, 2020, 141(2): 90-9.
- [16] 赵玲琳, 张勇, 薛慧, 等. 麦冬皂苷D对大鼠心肌细胞缺氧复氧损伤的保护作用及机制研究[J]. *中国循环杂志*(ZHAO L L, ZHANG Y, XUE H, et al. Study on the protective effect and mechanism of Maidong Saponin D on hypoxia-reoxygenation injury in rat cardiomyocytes [J]. *Chinese Journal of Circulation*), 2022, 37(2): 178-84.
- [17] 赵志成, 梁国英. 麦冬皂苷D调节SphK1/S1P/S1PR1信号通路对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌炎症的影响[J]. *中药新药与临床药理*(ZHAO Z C, LIANG G Y. The effect of Maidong Saponin D on myocardial inflammation in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury through regulating the SphK1/S1P/S1PR1 signaling pathway [J]. *New Drugs for Traditional Chinese Medicine and Clinical Pharmacology*), 2024, 35(11): 1698-704.
- [18] 范星宇, 廖晓倩, 黄淑敏, 等. 基于NLRP3/caspase-1通路探讨参附注射液调节细胞焦亡改善慢性心力衰竭[J]. *中国中药杂志*(FAN X Y, LIAO X Q, HUANG S M, et al. Exploring the regulation of cell pyroptosis by Shenfu injection through the NLRP3/caspase-1 pathway and its application in improving chronic heart failure [J]. *Chinese Journal of Chinese Materia Medica*), 2023, 48(23): 6475-82.
- [19] 冷婧, 郭彦青, 杨鹏, 等. 哈巴昔对心梗后心力衰竭大鼠心肌细胞凋亡及心室重构的影响[J]. *中药材*(LENG J, GUO Y Q, YANG P, et al. Effects of Habbagenin on cardiomyocyte apoptosis and ventricular remodeling in rats with post-myocardial infarction heart failure [J]. *Chinese Materia Medica*), 2023, 46(12): 3127-30.) m of shenmai on myocardial ischemia-reperfusion through the energy metabolism pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(7): 4046-62.
- [20] WANG S, YE L, WANG L. Protective mechanism of shenmai on myocardial ischemia-reperfusion through the energy metabolism pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(7): 4046-62.
- [21] 张蕴, 韩新生, 张洪阳, 等. N-乙酰半胱氨酸通过AMPK/SIRT1途径抑制缺氧诱导的大鼠脑血管内皮细胞损伤[J]. *中国动脉硬化杂志*(ZHANG Y, HAN X S, ZHANG H Y, et al. N-acetylcysteine inhibits hypoxia-induced injury in rat cerebral vascular endothelial cells through the AMPK/SIRT1 pathway [J]. *Chinese Journal of Arteriosclerosis*), 2020, 28(2): 107-12.
- [22] LI T, LUO C J, YI Z Q, et al. Dapagliflozin attenuates myocardial inflammation and apoptosis after coronary microembolization in rats by regulating the SIRT1/NF- κ B signaling pathway [J]. *Front Biosci*, 2025, 30(3): 27082-95.
- [23] SHAN T, LI X, XIE W, et al. Rap1GAP exacerbates myocardial infarction by regulating the AMPK/SIRT1/NF- κ B signaling pathway [J]. *Cell Signal*, 2024, 117(5): 111080-93.